

氏名(本籍)	なか じま ひでお 仲島日出男(埼玉県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 1,506 号		
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	化 学 研 究 科		
学位論文題目	Development of the Rapid Evaluation Method of Molecular Electrostatic Potentials of Proteins and Its Application to the Analysis of the Interactions between Proteins (蛋白質の静電ポテンシャルの迅速計算法の開発と蛋白質間相互作用の解析)		
主査	筑波大学教授	理学博士	菊池 修
副査	筑波大学教授	理学博士	池田 龍一
副査	筑波大学教授	工学博士	古川 尚道
副査	筑波大学助教授	Ph. D.	山本 泰彦

論 文 の 要 旨

分子静電ポテンシャル (MEP) は、酵素-基質相互作用や薬物-受容体相互作用などの解析に有用な指標である。MEP の計算には電子密度分布が必要であり、このための分子軌道計算を蛋白質のような巨大分子に対して行うことは困難である。したがって、分子軌道計算を行わず MEP を迅速に計算することは蛋白質の相互作用解析には必須条件となる。本論文は、蛋白質の MEP を迅速かつ正確に計算する方法として、単純な関数系を用いる方法を開発し、その有効性を検証した。また、決定した関数により計算した MEP に基づいて酵素-阻害剤の静電的相補性と疎水的相補性を調べ、蛋白質間相互作用を定量的に解析した。

第 1 章では計算方法を提案している。分子中の電子を内殻電子と原子価電子とに分けて考え、原子価電子のつくるポテンシャルを単純な関数で近似すること試みた。点電荷近似ではポテンシャルが近距離で発散するのを防ぐために近距離で効果的な関数を加えた形の関数系を提案し、 σ 電子対に対しては 3 点、孤立電子対に対しては 3 点、 π 電子対に対しては 6 点にその関数を配置し、それらの関数の和として 1 個の価電子の作るポテンシャルを計算した。この関数で計算されたポテンシャルを全原子価電子について加え、それに原子核と内殻電子が作るポテンシャルを点電荷近似により加えて分子静電ポテンシャルとした。蛋白質に含まれるフラグメントに対する関数を定めるため、14 個のモデル分子を用い、ab initio STO-5G 計算で得られる MEP と関数を用いて得られる MEP とを比較して、関数に含まれるパラメータを最小自乗法で決定した。

第 2 章では蛋白質を構成するアミノ酸 11 種類を用い、第 1 章で決定した方法の有効性を検証した。STO-5G による MEP と本論文で決定した関数による MEP を比較したところ、関数は、窒素原子付近およびカルボニル酸素付近の負の MEP 領域を深く見積もり、水酸基付近の負の MEP 領域をわずかに浅く見積もる傾向が見られたが、それらの極小値の大きさの順序、MEP の全体の形、イオン化に伴う電荷の変化による MEP の変化など、STO-5G による計算結果を正しく再現した。この方法による計算時間の短縮は 1 個のアミノ酸で 1000 分の 1 から 10000 分の 1 と極めて顕著であり、分子が大きくなるとこの割合はさらに大きくなるため、巨大分子の MEP 計算に要求される迅速性を満足している。この方法でセリンプロテアーゼの活性部位の MEP を計算したところ、この酵素の反応性を正しく説明できる MEP 図が得られ、本方法が蛋白質 MEP の迅速計算に有効であることを示した。

第3章では、開発された方法を用いて、酵素キモトリプシンとその阻害剤であるトリオボムコイドドメインⅢの相互作用を、アミノ酸配列の異なる8種について解析した。酵素-阻害剤相互作用においては、静電的相補性と疎水の相補性が重要であるが、前者を各残基ごとのMEP correlationにより、また、後者をMEP correlationの絶対値から見積もる方法を提案し、アミノ酸残基の変化により酵素-阻害剤結合定数が変化する実験結果を正しく説明できた。静電的な安定化に最も大きな寄与をするのはP₃'位であり、これがturkey オボムコイドの大きな結合定数の原因となっていること、ここにMetを持つgooseでは結合定数が小さくなること、など、8種類の各オボムコイドにおける相互作用をMEP計算に基づいた定量的方法により初めて明らかにした。

第4章では、酵素トリプシンと阻害剤CMTI-Iとの間の相互作用を解析し、これら間に見られる非常に安定な複合体の生成が、P₁'における静電相互作用とP₁'における疎水相互作用に基づくことを明らかにした。これらのことは実験的に示唆されていたが、本研究での定量的な解析により理論的に裏付けられた。

審 査 の 要 旨

本論文は蛋白質のMEPを迅速にかつ正確に計算する方法を新たに開発し、その有効性を検証した。提案された関数を用いるとMEP計算時間は大幅に短縮される。アミノ酸のMEP値は特定の傾向を持って理論値とのが見られたが、相対値と形状を正しく再現できた。したがって、蛋白質の3次元的なMEP形状とコンホメーション変化にともなうMEPの変化を迅速に計算することができ、蛋白質相互作用解析に有効に利用できる方法といえる。実際に2例について、本方法によって計算されたMEPをもとに蛋白質間相互作用を解析して実験結果と比較し、この方法の有効性を確認している。蛋白質の相互作用解析をリアルタイムで迅速に行うことが益々要求されており、精度良く実用的な速さでMEP図を計算できる方法を提案したこの論文は高く評価できる。本論文は計算化学分野の発展に寄与するところが大きい。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。